

## Comparación de la efectividad de transgalactosilación de diferentes $\beta$ -galactosidasas

Lucia Vargas del Campo, Karina Domínguez González, Ricardo Muñiz Cotero, Lorena Gómez-Ruiz, Eduardo Bárzana\*, Mariano García-Garibay, Alma Cruz-Guerrero

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

AP 55-535, C.P. 09340, Fax: 58-04-47-12, e-mail: aec@xanum.uam.mx

\*Departamento de Alimentos y Biotecnología, Fac. de Química, UNAM.

Palabras clave: galactooligosacáridos,  $\beta$ -galactosidasa,  $a_w$

**Introducción.** La actividad de galactosiltransferasa de las  $\beta$ -galactosidasas utilizadas en la hidrólisis de la lactosa en leche, ha despertado gran interés para utilizarlas en la síntesis de oligosacáridos; sin embargo, el uso de estas enzimas para la síntesis de oligosacáridos ha encontrado fundamentalmente la competencia entre las reacciones de hidrólisis y de transglucosilación, por lo que los rendimientos son bajos (1). El equilibrio termodinámico entre las reacciones de hidrólisis y transgalactosilación puede desplazarse hacia la formación de galactooligosacáridos cuando se trabaja en medios orgánicos con baja concentración de agua, con lo cual se puede controlar el grado de hidratación de la enzima y minimizar la reacción de hidrólisis (2). En el presente trabajo se estudió la síntesis de galactooligosacáridos mediante transgalactosilación de lactosa con 4 diferentes  $\beta$ -galactosidasas en un medio orgánico, en el cual es factible trabajar con diferente concentración de agua y por lo tanto favorecer la reacción de transgalactosilación.

**Metodología.** Las enzimas utilizadas fueron:  $\beta$ -glucosidasa CloneZyme Gly-001-02 y  $\beta$ -galactosidasas de *Aspergillus oryzae*, *Escherichia coli* y *Kluyveromyces lactis*. Las reacciones se llevaron a cabo en reactores de 20 mL que tienen una doble pared por la que se recircula agua para mantener constante la temperatura de reacción. Cada reactor contenía 3.95 mL de medio de reacción (acetona con diferentes concentraciones de agua y lactosa) y 50  $\mu$ L de enzima.

Determinación de los carbohidratos: lactosa, galactosa, glucosa y galactooligosacáridos en la reacción fueron determinados mediante cromatografía de capa fina (CCF), usando como fase móvil una mezcla de n-butanol:acetona:agua (en proporción 40:50:10).

**Resultados y discusión.** En la figura 1 se puede observar la reacción enzimática de la  $\beta$ -galactosidasa de *A. oryzae* y es claro que esta enzima es capaz de sintetizar dos galactósidos (GOS) a partir de lactosa, sin embargo también observamos la hidrólisis de la lactosa.

De igual forma se realizaron experimentos con diferentes galactosidasas a distintas  $a_w$  del medio de reacción para ver si existía algún cambio en el equilibrio termodinámico entre las reacciones de hidrólisis y transgalactosilación; los resultados se resumen en la tabla 1. Como podemos observar de las cuatro enzimas estudiadas solo la  $\beta$ -galactosidasa de *E.*

*coli* no mostró la capacidad de sintetizar GOS, razón por la cual se decidió no continuar más experimentos con ésta, mientras que con las otras tres enzimas se estudio la influencia de la  $a_w$  del medio de reacción para saber si este parámetro influye en la síntesis de GOS. En general se puede ver que para las tres enzimas el parámetro  $a_w$  afectó de igual manera la síntesis de GOS, disminuyendo el número de éstos en comparación con el medio acuoso, lo que resulta contrario a lo esperado, es decir que a menor cantidad de agua se desplaza el equilibrio hacia las reacciones de transgalactosilación.

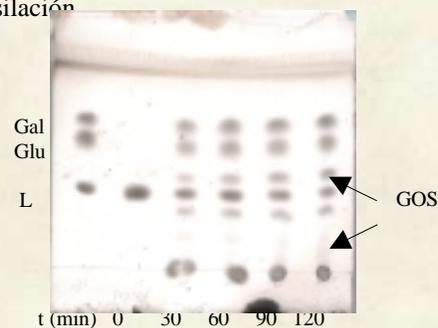


Figura 1. CCF de la reacción de la  $\beta$ -galactosidasa de *A. oryzae* a  $a_w$  de 0.9. L: lactosa, Glu: glucosa, Gal: galactosa, GOS: galactósidos

Lactasa $a_w$	<i>Aspergillus oryzae</i>		<i>Kluyveromyces lactis</i>		<i>Escherichia coli</i>		Cloenzyme	
	H	G	H	G	H	G	H	G
0.99	✓	2	✓	2	✓	✗	✓	3
0.9	✓	2	✓	1	-	-	✓	3
0.8	✓	1	✓	1	-	-	✓	3
0.4	✓	1	✗	✗	-	-	✓	2

H: hidrólisis de lactosa, G: número de galactósidos sintetizados, ✓: si hubo reacción, ✗: no hubo reacción, -: no se realizó

Tabla 1. Comparación de diferentes  $\beta$ -galactosidasas con distintas  $a_w$  en el medio de reacción

**Conclusiones.** Las enzimas llevaron a cabo la reacción de transgalactosilación con lo cual se logró sintetizar GOS en un sistema orgánico de una fase, sin embargo dicha reacción no se vio favorecida con la disminución de la  $a_w$  lo que nos hace suponer que la flexibilidad de las enzimas esta jugando un papel importante, y por tanto no se logra la síntesis de GOS de mayor tamaño.

### Bibliografía.

- Hansson T. y Adlercreutz P. 2001. Optimization of galactooligosaccharide production from lactose  $\beta$ -glycosidases from hyperthermophiles. Food Biotechnology. 15(2):79-97.
- García-Garibay M., López-Munguía A. y Bárzana E. 2000. Effect of  $\beta$ -galactosidase hydration on alcoholysis in organic one-phase liquid systems. Biotechnology and Bioengineering. 70(6):648-653.